

دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد تغذیه

بررسی اثر لوئتولین بر $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در التهاب القا شده با لیپوپلی ساکارید در موش های صحرایی نر

استاد راهنما: دکتر محمد صوفی آبادی

اساتید مشاور: دکتر حسین خادم حقیقیان، دکتر محمود علیپور حیدری

دانشجو: مینا اسلامی

شهریور ۹۶



مقدمه و بیان مسئله



مقدمه

✓ **التهاب** یک پاسخ دفاعی است که فرآیندهای پیچیده ای مانند اتساع عروق، تراوش پروتئین های پلاسما و ورود لکوسیت به محل التهاب را شامل می شود (۱،۲).

✓ **α -TNF** از مهمترین شاخص های التهاب است (۳).

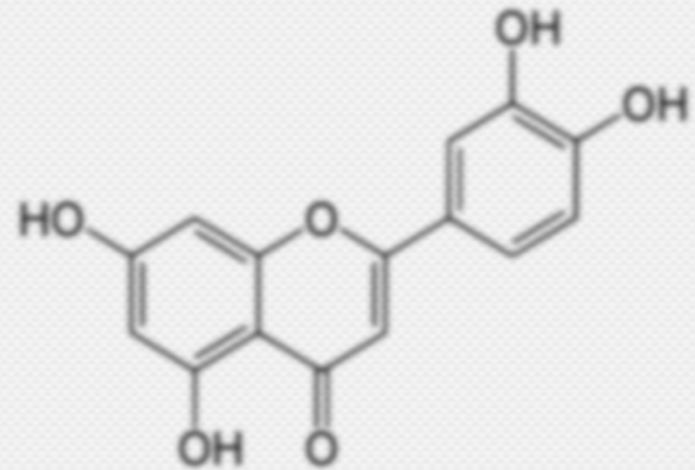
✓ **اینترلوکین یک بتا** نیز از مهمترین سایتوکاین های پیش التهابی بوده که سنتز مولکول اتصال به اندوتلیوم سلول های التهابی را افزایش داده و باعث وازودیلاتاسیون ، کموتاکسی و تشدید التهاب در محل آسیب دیده می شود (۴).



مقدمه

✓ **لوتئولین** فلاونوئیدی است که در اکثر سبزیجات از جمله کرفس،

جعفری، هویج، روغن زیتون، مریم گلی، آویشن یافت می شود و نقش درمانی مختلفی بر بیماری های مرتبط با آسیب اکسیداتیو و التهاب حاد مانند آسیب حاد ریه ، آنفارکتوس حاد میوکارد و هپاتیت دارد (۵-۷).



بیان مسئله و هدف کاربردی

✓ داروهای ضد التهاب رایج استروئیدی از پرمصرف ترین داروها در دنیا هستند اما به دلیل خطرات احتمالی مرتبط با استفاده از این داروها مثل **عوارض** گوارشی، قلبی و عروقی، کلیوی، کبدی و آثار هماتولوژیک، بر آن شدیم در این پژوهش به **بررسی اثر ضد التهابی فلاتونوئید لوتئولین موجود در بعضی گیاهان بر سیتوکین التهابی اینترلوکین ۱-بتا و $TNF-\alpha$ پردازیم.**



هدف اصلی

تعیین اثر لوتئولین بر $IL-1\beta$ و α -TNF در التهاب القا شده با لیپوپلی ساکارید در موش های صحرایی نر



اهداف فرعی

✓ تعیین اثر دوز 5 mg/kg لوتئولین بر میزان $\text{TNF-}\alpha$ و $\text{IL-1}\beta$

✓ تعیین اثر دوز 15 mg/kg لوتئولین بر میزان $\text{TNF-}\alpha$ و $\text{IL-1}\beta$

✓ تعیین اثر دوز 30 mg/kg لوتئولین بر میزان $\text{TNF-}\alpha$ و $\text{IL-1}\beta$



فرضیه ها

- دوز **5 mg/kg** لوتئولین باعث کاهش سطح $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ سرم موش می شود.
- دوز **15 mg/kg** لوتئولین باعث کاهش سطح $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ سرم موش می شود.
- دوز **30 mg/kg** لوتئولین باعث کاهش سطح $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ سرم موش می شود.
- لوتئولین بصورت وابسته به دوز موجب کاهش $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در موش می شود.



روش کار



روش کار: تهیه حیوانات



✓ نوع مطالعه: تجربی

✓ جامعه پژوهش: ۹۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با محدوده وزنی

بین ۱۸۰ - ۲۲۰ گرم بود

✓ حیوانات از موسسه رازی کرج خریداری و در نور و صدا و دمای استاندارد (

شرایط یکسان آزمایشگاه) و زمان نوردهی تاریکی- روشنایی ۱۲-۱۲

ساعت نگهداری شدند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود.



روش کار: گروه بندی ، القا التهاب و سنجش التهاب

گروه های آزمایش: کنترل، شم (نرمال سالین)، دگزامتازون (۱۵ میلی گرم بر

کیلوگرم به عنوان کنترل مثبت) و ۳ گروه دریافت کننده لوتئولین با دوزهای

۵، ۱۵ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم

ایجاد التهاب: تزریق ۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم لیپوپلی ساکارید

بازه های زمانی خونگیری: ۴ ، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق لیپوپلی ساکارید

روش اندازه گیری فاکتورهای التهابی: ELISA با کیت



روش کار: نمونه گیری

✓ با توجه به مطالعات قبلی (۸) تعداد ۹۰ موش انتخاب شد.

✓ موش ها به ۶ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند.



روش کار: تجزیه و تحلیل داده ها

✓ برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS استفاده و
با بکارگیری آزمون Anova و تست تعقیبی توکی و حداقل
تفاوت معنی دار در تمامی حالات $P \leq 0.05$ در نظر گرفته
شد.



یافته ها



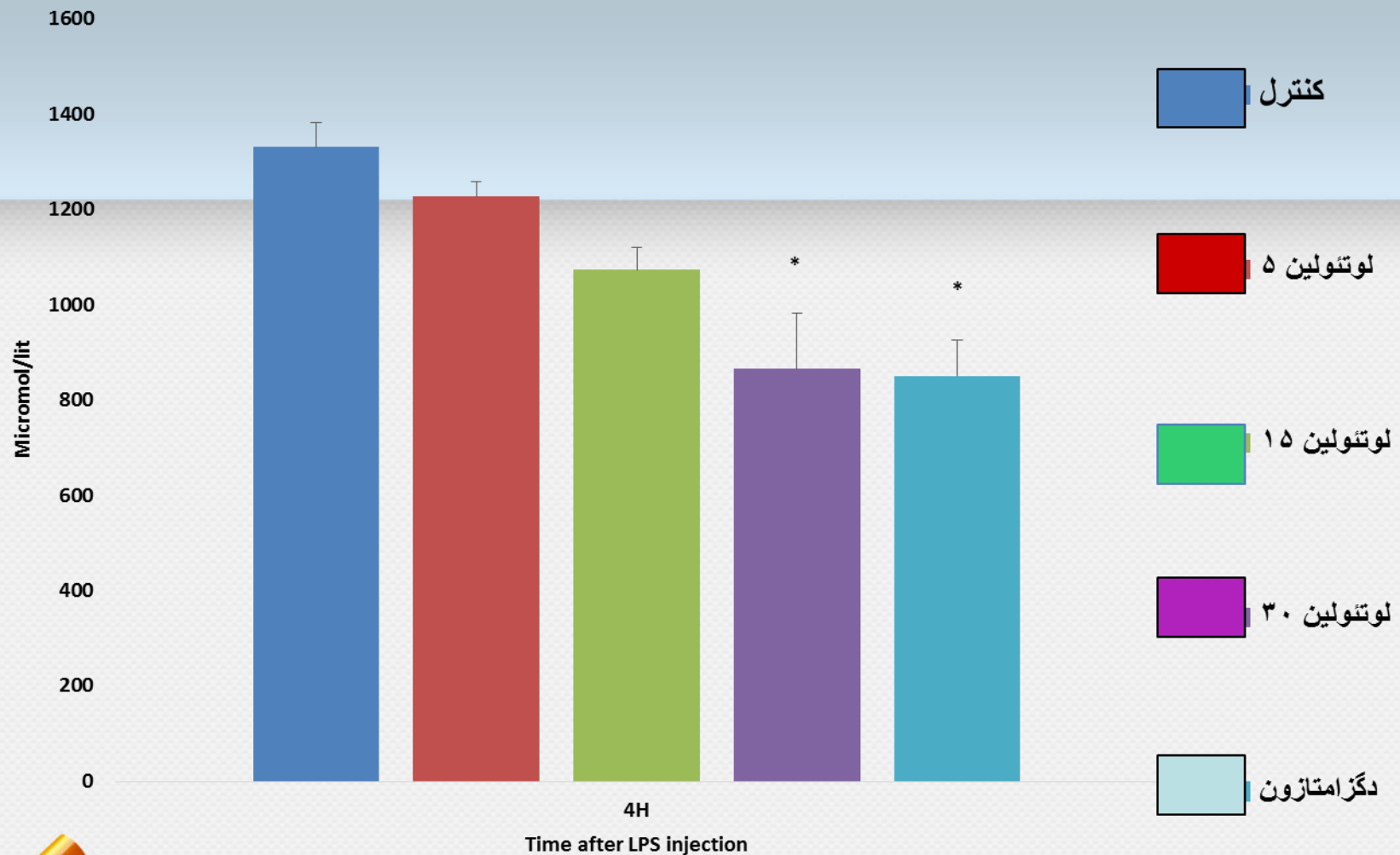
✓ اثر لوتئولین بر $IL-1\beta$ در ۴ ساعت پس از تزریق،

✓ لوتئولین در هر سه دوز موجب کاهش $IL-1\beta$ در ۴ ساعت پس از تزریق شد که در غلظت ۳۰ میلی گرم در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی دار بود $P < 0.05$

✓ اثر کاهشی دگزامتازون بر $IL-1\beta$ ، نیز معنی دار بود.



اثر لوتئولین بر $IL-1\beta$ در فاصله زمانی ۴ ساعت پس از تزریق

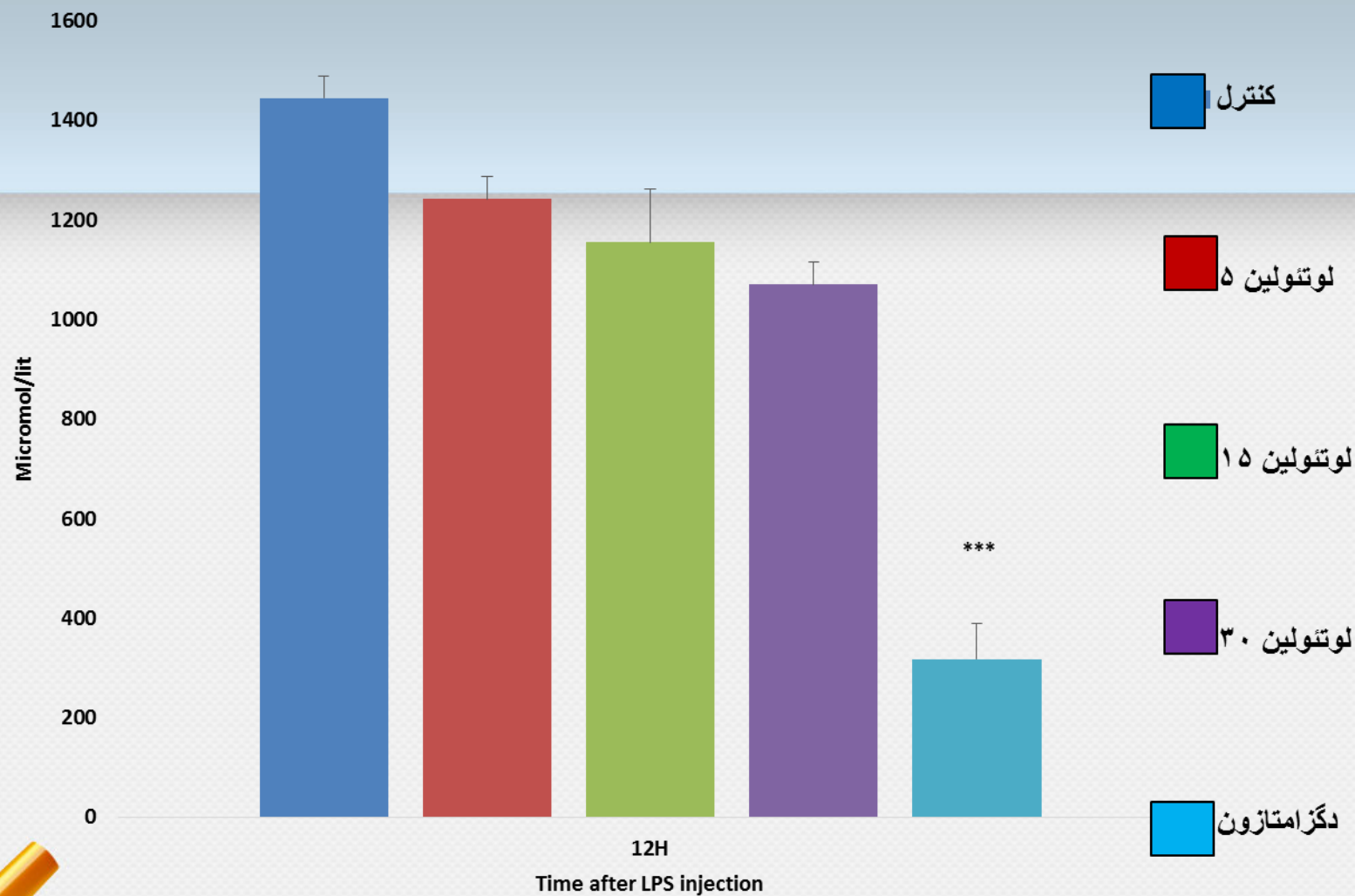


✓ اثر لوتئولین بر $IL-1\beta$ در ۱۲ ساعت پس از تزریق،

✓ در فاصله زمانی ۱۲ ساعت پس از تزریق لیپوپلی ساکارید، لوتئولین در هر سه غلظت بکار رفته سطح $IL-1\beta$ را در مقایسه با کنترل کاهش داد ولی این تفاوت ها از نظر آماری معنی دار نبود.



اثر لوئتولین بر IL-1 β در فاصله زمانی ۱۲ ساعت پس از تزریق



✓ اثر لوتئولین بر $IL-1\beta$ در ۲۴ ساعت پس از تزریق،

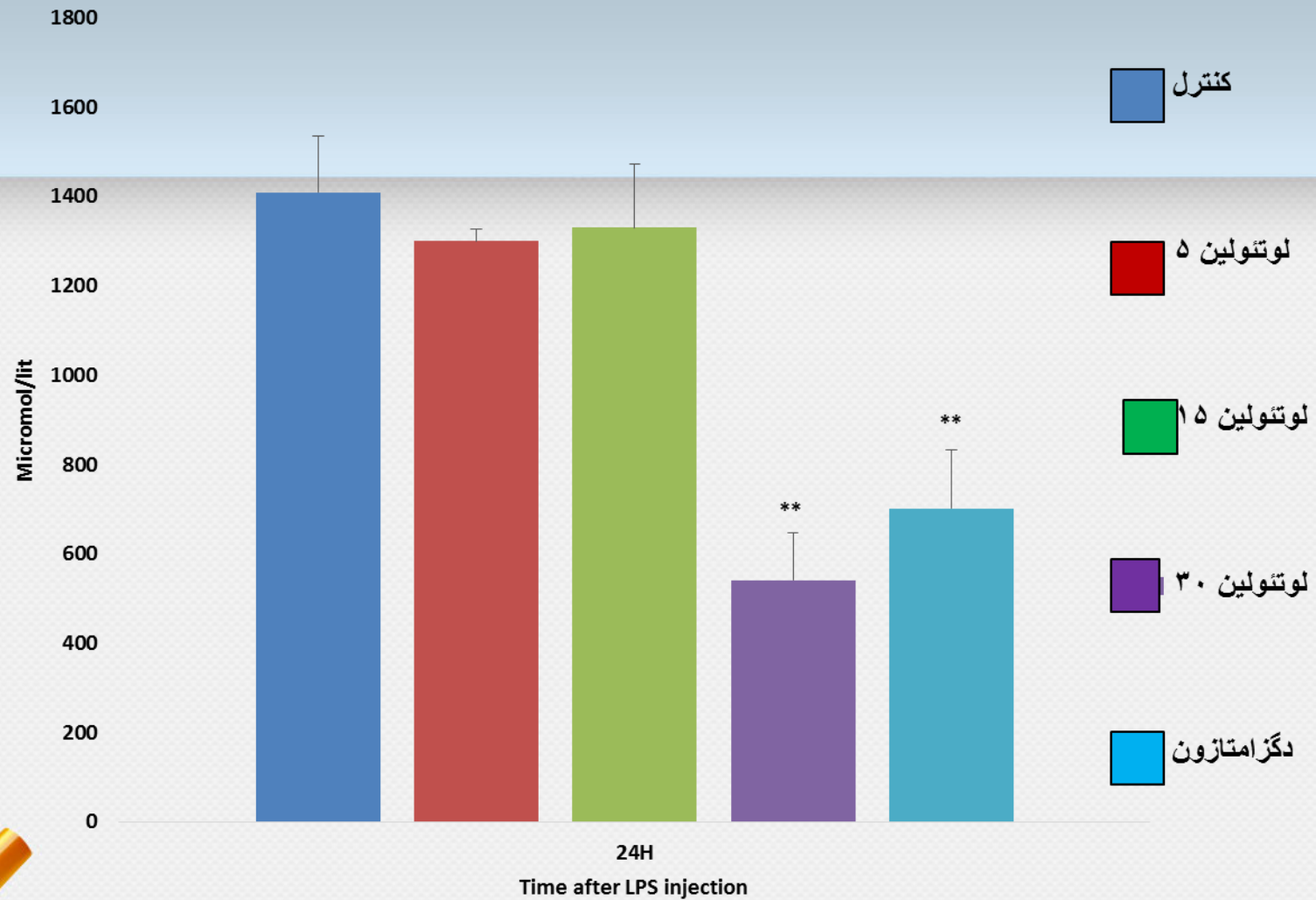
✓ در فاصله زمانی ۲۴ ساعت از تزریق لیپوپلی ساکارید، لوتئولین با غلظت

۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم یا تزریق دگزامتازون موجب کاهش معنی دار

سطح $IL-1\beta$ در مقایسه با گروه کنترل شد $P < 0.01$



اثر لوئتولین بر IL-1 β در فاصله زمانی ۲۴ ساعت پس از تزریق



✓ اثر لوتئولین بر $\text{TNF-}\alpha$ در ۴ ساعت پس از تزریق،

✓ در فاصله زمانی ۴ ساعت پس از تزریق لیپوپلی ساکراید ، لوتئولین در

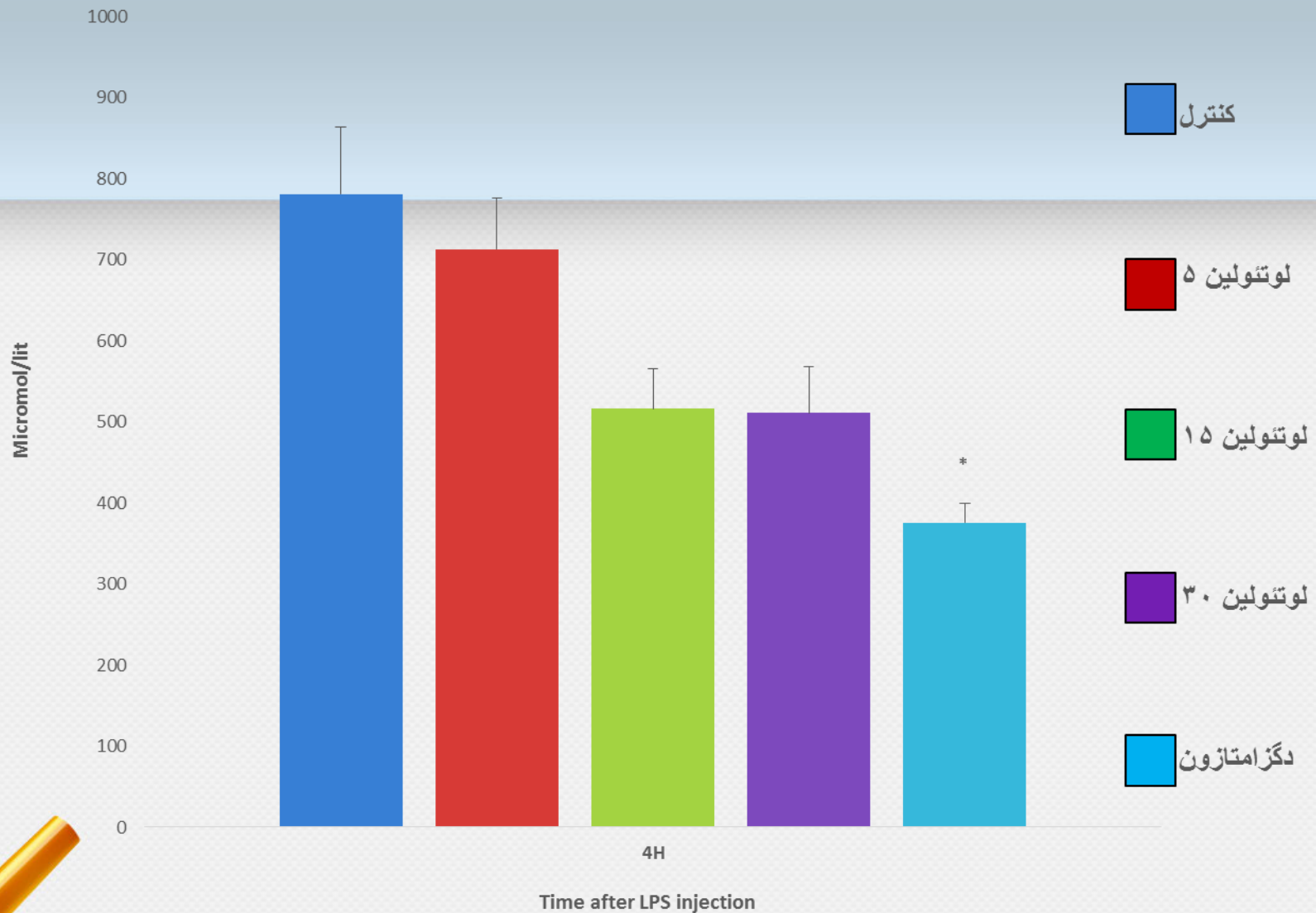
دوزهای ۱۵ و ۳۰ سطح سرمی $\text{TNF-}\alpha$ را کم نمود ولی معنی دار نبود.

✓ اثر مهارى دگزامتازون بر $\text{TNF-}\alpha$ نیز در مقایسه با گروه کنترل معنی دار

بود $P < 0.05$



اثر لوتئولین بر $TNF-\alpha$ در فاصله زمانی ۴ ساعت پس از تزریق



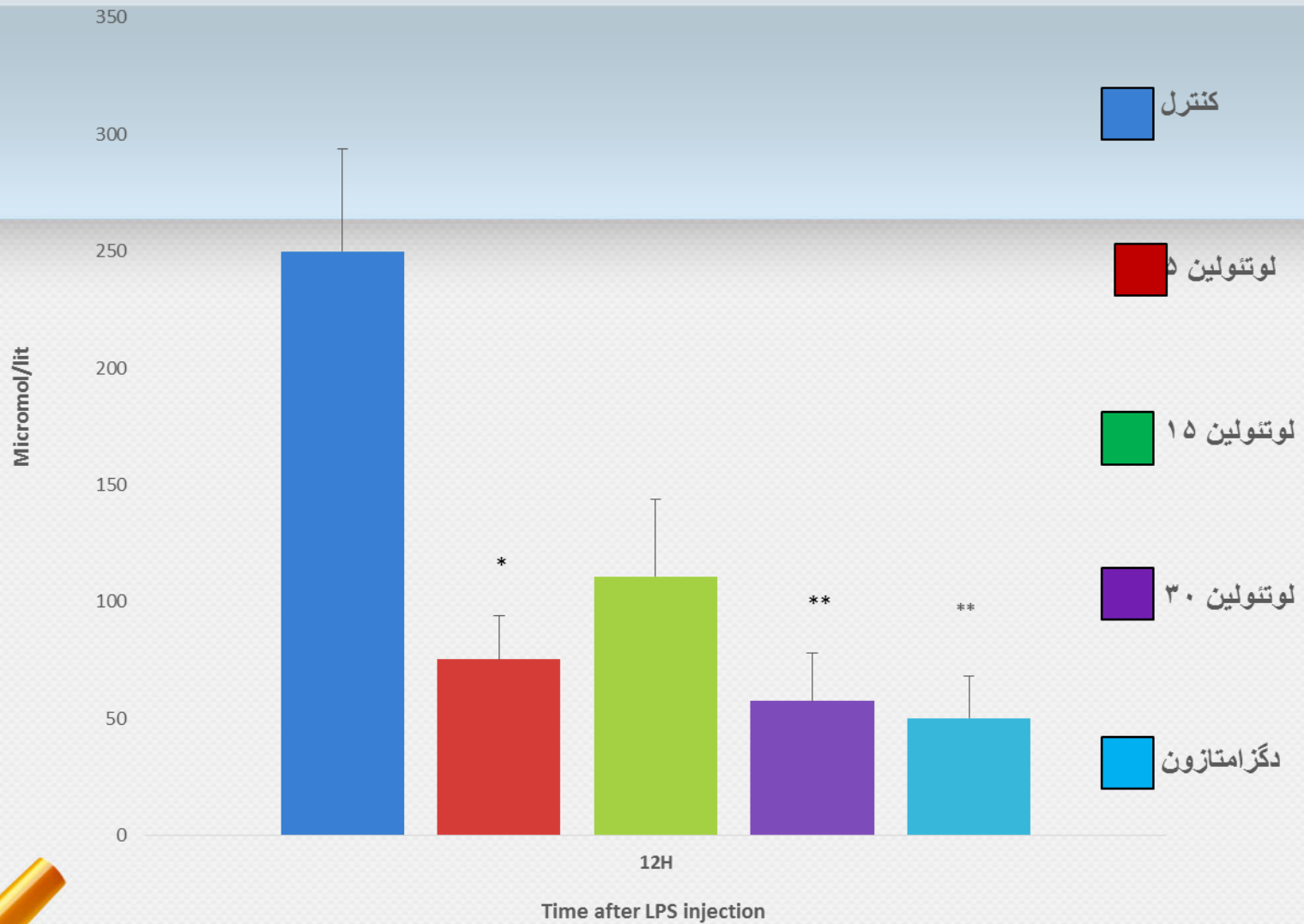
✓ اثر لوتئولین بر $\text{TNF-}\alpha$ در ۱۲ ساعت پس از تزریق،

✓ در فاصله زمانی ۱۲ ساعت از تزریق ، لوتئولین در غلظت های ۵ میلی گرم بر کیلوگرم ($P<0.05$) و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($P<0.01$) موجب کاهش معنی دار سطح سرمی $\text{TNF-}\alpha$ شد .

✓ تزریق دگزامتازون ($P<0.01$) نیز موجب کاهش معنی دار $\text{TNF-}\alpha$ شد.



اثر لوئتولین بر $TNF-\alpha$ در فاصله زمانی ۱۲ ساعت پس از تزریق



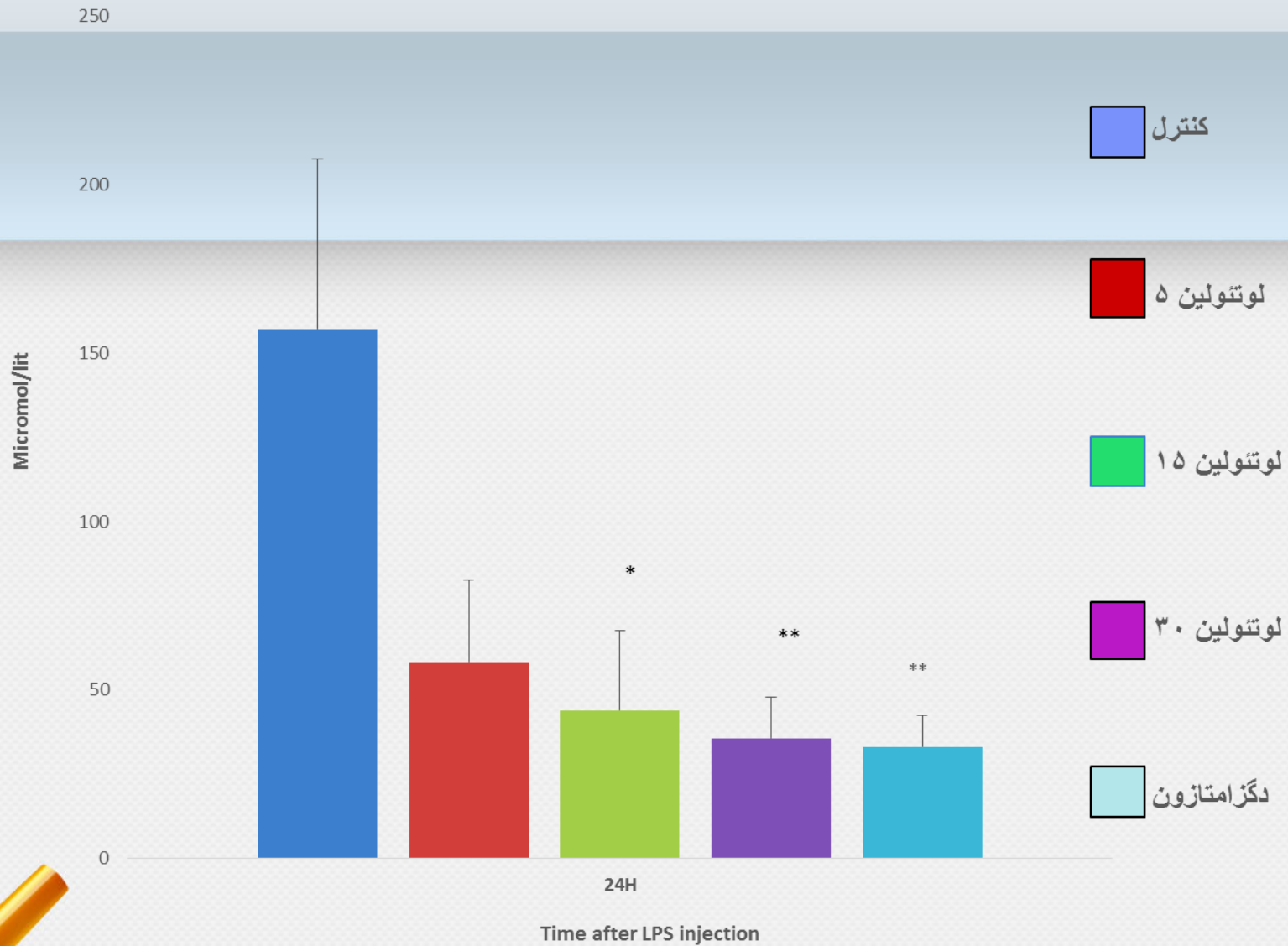
✓ اثر لوتئولین بر $\text{TNF-}\alpha$ در ۲۴ ساعت پس از تزریق،

✓ در فاصله زمانی ۲۴ ساعت از تزریق لیپوپلی ساکارید، لوتئولین در هر سه غلظت مورد استفاده موجب کاهش سطح سرمی $\text{TNF-}\alpha$ گردید که در مقایسه با گروه کنترل این تفاوت ها در **غلظت های ۱۵** ($P < 0.05$) و **۳۰ میلی گرم** یا تزریق دگزامتازون ($P < 0.01$) معنی دار می باشد.

✓ بیشترین اثرمهارى لوتئولین در دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلو گرم حاصل شد.



اثر لوتئولین بر $TNF-\alpha$ در فاصله زمانی ۲۴ ساعت پس از تزریق



بحث



✓ Jeon و همکارانش در سال ۲۰۱۴ در مطالعه خود بر روی اثرات ضد التهابی و ضد خارش لوتئولین از برگ های گیاه پریلا، از طریق آنالیز مواد فعال موجود در این برگ ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و جداسازی لوتئولین نشان دادند که لوتئولین ترشح سیتوکین های التهابی $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ از ماست سل های انسان را مهار می کند (۹).

✓ در همین زمینه Kanai Kazutaka و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اثر لوتئولین بر التهاب عنبیه ناشی از اندوتوکسین بررسی و مشاهده کردند که تجویز لوتئولین تعداد سلول های التهابی، سطوح $TNF-\alpha$ ، نیتریک اکسید (NO) و پروستاگلاندین $E2$ را در زلالیه به طور معناداری کاهش می دهد (۱۰).



✓ نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعات صورت گرفته از سوی پژوهشگران دیگر در این زمینه هماهنگ است.

✓ هر سه غلظت لوتئولین در بازه های زمانی ۴ و ۲۴ ساعت موجب کاهش سطح $IL-1\beta$ شده است.

✓ در مقایسه با گروه کنترل، تزریق لوتئولین در هر سه غلظت در بازه های زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت کاهش میزان $TNF-\alpha$ را نشان داد.



✓ نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پیش تجویز لوتئولین در هر سه غلظت مورد استفاده اثر چشمگیر مهاری بر میزان $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ سرم متعاقب تجویز LPS دارد و این اثر تقریباً وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت اثرات ضدالتهابی آن نیز افزایش می یابد. لوتئولین در غلظت ۳۰ میلی گرم بیشترین اثر ضدالتهابی را نشان داد که نزدیک به اثر داروی ضدالتهابی استروئیدی دگزامتازون بود.



نتیجہ گیری



✓ نتیجه این مطالعه نشان داد که لوتئولین نقش برجسته ای در مهار فاکتورهای پیش التهابی دارد.

✓ این فلاونوئید قادر است فعالیت التهابی ماست سل ها را مهار و بیان و تولید سیتوکین های پیش التهابی را در سطوح مختلف ، حتی در سطح بیان ژن ممانعت کند.

✓ بنابراین می تواند در درمان بیماری های التهابی بکار رود.



پیشنهادات



✓ با توجه به شیوع بالای بیماری های التهابی و اثر مثبت لوتئولین بر روند التهاب و کاهش عوارض داروهای ضد التهاب ، پیشنهاد می شود:

✓ ۱. بررسی اثر آن در التهابات مزمن

✓ ۲. بررسی اثر لوتئولین بر روی بیماریهای التهابی مختلف

✓ ۳. بررسی اثر سایر فلاونوئیدها بر التهاب در حیوانات انجام شود.



منابع



.^١ .Kang, H., et al., *Anti-inflammatory effects of Stephania tetrandra S. Moore on interleukin-6 production and experimental inflammatory disease models*. Mediators of inflammation, 1996. **5**(4): p. 280-291.

.^٢ Küpeli, E., et al., *Estimation of antinociceptive and anti-inflammatory activity on Geranium pratense subsp. finitimum and its phenolic compounds*. Journal of ethnopharmacology, 2007. **114**(2): p. 234-240

.^٣ Hall, B., et al., *Conditional TNF- α Overexpression in the Tooth and Alveolar Bone Results in Painful Pulpitis and Osteitis*. Journal of dental research, 2016. **95**(2): p. 188-195.

.^٤ Takahashi, K., et al., *Role of cytokine in the induction of adhesion molecules on cultured human gingival fibroblasts*. Journal of periodontology, 1994. **65**(3): p. 230-235



.^Δ Seelinger, G., I. Merfort, and C.M. Schempp, *Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin*. *Planta medica*, 2008. **74**(14): p. 1667-1677.

.^Ε Kuo, M.-Y., et al., *Luteolin attenuates the pulmonary inflammatory response involves abilities of antioxidation and inhibition of MAPK and NFκB pathways in mice with endotoxin-induced acute lung injury*. *Food and Chemical Toxicology*, 2011. **49**(10): p. 2660-2666.

.^Υ Nabavi, S.F., et al., *Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: a brief review*. *Brain research bulletin*, 2015. **119**: p. 1-11.

.^Λ Kanai, K., et al., *Therapeutic anti-inflammatory effects of luteolin on endotoxin-induced uveitis in Lewis rats*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2016. **78**(8): p. 1381-1384

.^Θ Jeon, I.H., et al., *Anti-inflammatory and antipruritic effects of luteolin from Perilla (P. frutescens L.) leaves*. *Molecules*, 2014. **19**(6): p. 6941-6951

.^Ψ Kanai, K., et al., *Therapeutic anti-inflammatory effects of luteolin on endotoxin-induced uveitis in Lewis rats*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2016. **78**(8): p. 1381-1384

استاد راهنمای محترم جناب آقای دکتر صوفی آبادی،
مشاوران محترم جناب آقای دکتر خادم و جناب آقای
دکتر علیپور و همچنین از هیئت محترم داوران و
میهمانان عزیز که محفل ما را نورانی نمودند صمیمانه
تشکر می کنم.





Manuscript ID: 58271 | Jundishapur J Nat Pharm Prod, Rev [0] | Ready for Peer Review | Author information

2017-07-19 09:40:16

This email sent to you just for your information and there is no need to reply.

Journal:	Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products
Manuscript ID:	58271
Manuscript Title:	Investigating the Effect of Luteolin on IL-1 β and TNF-A in Inflammation Induced by Lipopolysaccharide in Male Rats
Manuscript Revision:	[0]

Dear Dr. Mohammad Sofiabadi,

Following your submission, we have screened your manuscript and now it is ready to be reviewed by the journal editorial board. To track your submission in peer-review process, sign in to the journal website with your account and check the status.

Thank you for submitting your manuscript to the journal.

Kind Regards,

Prof. Heibatullah Kalantari | **Editor-in-Chief** | [Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products](#)

Do you want to receive our newsletters, discount offers and article publish notices? Join us [here](#).